Aug., 1982

蓑蛾越冬幼虫中肠的封闭及中肠细胞淀粉酶的残留

谢麟阁

(安徽大学生物系)

蓑蛾幼虫(俗称皮虫或袋虫)是许多树木的常见害虫。每年11月中下旬,成熟幼虫停止进食,以幼虫期越冬。至次年4月中旬,雄虫开始化蛹。为探讨长期越冬后,幼虫中肠的形态及功能,作者根据其食性,选择淀粉酶活性作为指标,进行了下述实验。

材料及方法

早春时采集挂于树梢之大蓑蛾 (Cryptothelea variegata Snellen) (朱弘复等,1979) 幼虫茧袋,用剪刀纵裂茧袋,取出幼虫。 配制鳞翅目平衡盐液 (BSS) (Paul, 1965) 及离体培养液 (1克水解乳白蛋白溶于 100毫升 BSS 中)。

淀粉酶测定法 在 BSS 中解剖幼虫(不分雌雄),仔细除去丝腺,脂肪体及马氏管后,切取其中肠,纵裂之,洗净其内容物,然后纵剪成 3 至 4 条,再洗两次。取容量为 1.2 毫升的药瓶塑料内盖作培养器,分别盛培养液 0.4 毫升,依次将每虫中肠剪成的小条分配于各培养器中。例如使用 4 个培养器,需虫 8 条,则每器含中肠总量为 2 条,但为 8 条幼虫所提供。如此分配完毕后,每培养器加 1% 淀粉液一滴,用盖玻片作盖,置入温箱保持温度 28-30%,培养 4.5-5.0 小时。

培养完毕, 从温箱中取出, 用吸管将培养液吸至扁形比色管(容量 2 毫升) 内。 滴加 1N HCl 1 滴停

止淀粉酶活性,比色管内加蒸馏水 1.5 毫升,再加碘液 (Lugol 氏液稀释 100 倍) 2 滴,混匀后,在分光光度计 620nm 处读其透光率,作为淀粉消化的指数。

结 果

从 3 月初至 4 月中旬所作实验见图 1。除 C 点外,各点为 2—5 次实验结果的综合。

A 为无中肠的培养,示淀粉没有消耗。 C 为无淀粉的培养,代表淀粉已消化尽,此两点作对照用。由 B 可见,中肠离体培养,其细胞中淀粉酶逸出之量,与培养时间呈直线相关,即培养时间愈长,逸出量愈多。 5 小时后之培养液,碘试已不呈蓝色。

淀粉是引起中肠细胞释放淀粉酶的主要因素(图 1·D)。如果不加淀粉,先将中肠培养5小

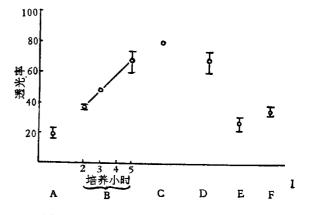


图 1 各项实验 (A, B, C……) 的结果比较

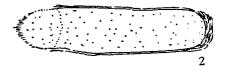


图 2 围食膜,右方为后肠,其处围食膜封闭(×6)

时,吸出培养液,在培养液中加入淀粉液 1 滴,继续培养 30 分钟,结果如图 1 之 E,说明中肠单独离体培

本文于1981年5月收到。

养时,只有极少量的淀粉酶逸出。有时在培养中肠时,滴加ATP2滴,也不能促进淀粉酶的释放。

如果中肠加淀粉培养 5 小时后,置换新培养液,再加淀粉继续培养 5 小时,则淀粉酶逸出量只约有第一次的 1/3 (图 1: F),说明中肠细胞中残留的淀粉酶已濒于耗尽,而且在全面提供氨基酸原料的培养条件下,中肠细胞此时并无能力合成淀粉酶。

此时中肠前端之贲门及后端之幽门已闭塞不通,中肠内有时空乏无物,有时留有浅褐色物质,剪断中肠可驱出筒状物,显微镜检视,系围食膜所包围的已消化食物。值得注意的是,围食膜的后端也是封闭的(图 2)。

如将水由注射器注入中肠,两端并不外溢,而中肠却膨胀呈瓶形(图 3),证明中肠两端系组织学的闭塞,而不是通过括约肌收缩的机械闭塞。中肠撕裂涂片快速检查细胞(图 4),都属正常,没有退化坏死的特征。

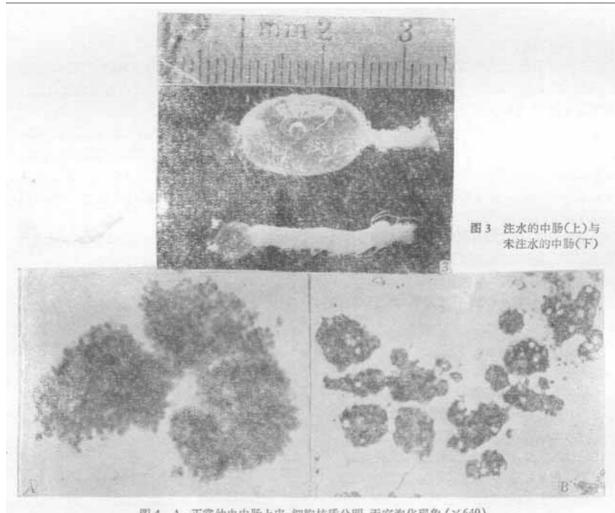


图 4 A. 正常幼虫中肠上皮,细胞核质分明,无空泡化现象(×640) B. 维蛹中肠上皮,崩溃成小岛状,空泡化极明显(×640)

讨 论

一般昆虫生理学书中(如 Roeder, 1953; Rockstein, 1965; Wigglesworth, 1972),都不曾提到鳞翅目越冬幼虫的中肠封闭。蓑蛾越冬幼虫中肠究竟什么时候开始封闭,以及其意义如何均不得而知。但在整个越冬期,中肠上皮细胞并不崩溃(图 4A)。而且自始至终中肠细胞都含有残留的淀粉酶。Parker

(1940)报道,一种蛀食木材的甲虫成熟越冬幼虫(Scoiytus destructor),肠内查不出任何消化酶的活性,认为中肠细胞已停止分泌。 Day & Waterhouse (1953)引述 Bottger 对玉米钻心虫的研究,其越冬幼虫中肠中亦无淀粉酶。蓑蛾越冬幼虫中肠细胞中所含淀粉酶,可认为是停食后形成,因为没有食物刺激而储留在细胞内不分泌到肠腔中。一旦遇到淀粉的刺激,便释放出来。虽然作者实验证明,蓑蛾幼虫的血淋巴含有游离的淀粉酶,脂肪体的离体培养也能释放淀粉酶,但似乎中肠细胞的淀粉酶不可能来自脂肪体,而系其本身所合成的。

Chippendale & Yin(1973) 发现玉米钻心虫 (Diatraea grandiosellu) 的成熟滯育幼虫,仍能进行蜕皮。但蓑蛾幼虫越冬期长达5个月,其间并不蜕皮。证明其前胸腺不活跃,其体内一切组织细胞都停顿在幼虫期态。如果个别分离,进行离体研究,则蓑蛾幼虫将是长期而又稳定的实验材料。

参考 文献

朱弘复等 1979 蛾类幼虫图册 (一)。科学出版社。14页,图版 2,5。

Chippendale, G. M. & C. M. Yin, 1973 Endocrine activity retained in diapause insect larvae. Nature, 246, 511-3.

Day, M. F. & D. E. Waterhouse, 1953 The Mechanism of Digestion. In K. D. Roeder (Ed.) "Insect Physiology" pp. 319—20.

Parker, E. A. 1940 The digestive enzymes of some wood-boring beetle larvae. J. Exp. Biol., 17, 364-77.

Paul, J. 1965 "Cell and Tissue Culture" 3rd. Ed. p. 103.

OCCLUSION OF MID-GUT AND IN VITRO RELEASE OF AMYLASE FROM THE GUT-EPITHELIUM IN HIBERNATING LARVAE OF CRYPTOTHELEA VARIEGATA SNELLEN (PSYCHIDAE, LEPIDOPTERA)

HSIEH LIN-KO
(Department of Biology, Anhui University)